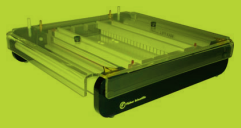


Fisherbrand®
QUALITY. RELIABILITY. VALUE.

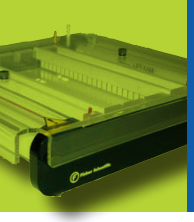
Manuel d'instructions

Unités d'électrophorèse horizontale, format large

11553352
format large, Mini-Plus

11563382
format large, Midi-Plus

Unités d'électrophorèse horizontale



Fisherbrand
QUALITY. RELIABILITY. VALUE.

MANUEL D'INSTRUCTIONS

Unités d'électrophorèse horizontale, format large

TABLE DES MATIÈRES

Instructions de sécurité 3

Contenu de l'emballage 4

Unité à gel horizontal, format large, Mini-Plus (11553352) 4

Unité à gel horizontal, format large, Midi-Plus (11563382) 4

Caractéristiques du système 5

Structure 5

Consignes et limites d'utilisation 5

Entretien et maintenance 6

Nettoyage des unités horizontales 6

Décontamination de l'RNase 6

Les risques 6

Utilisation des unités d'électrophorèse horizontale 7

Installation des cuves pour gels horizontaux 7

Instructions pour l'installation des câbles d'électrode 7

Instructions pour l'installation des guides de chargement (facultatif) 7

Coulage du gel 7

Migration du gel 8

Conditions de fonctionnement 8

En fin de la migration 8

Préparation de gels d'agarose 9

Électrophorèse en gel d'agarose 9

Performance de séparation 9

Sélection de la concentration du gel 9

Sélection du tampon d'électrophorèse 10

Température 10

Visualisation d'ADN 10

ANNEXE 11

Spécifications des peignes 11

Utilisation de plusieurs peignes 11

11553352 - Unité à gel horizontale, format large, Mini-Plus 11

11563382 - Unité à gel horizontale, format large, Midi-Plus 12

Fisher BioReagents™ 13

Emballages conçus pour la sécurité, le confort et la qualité des produits 13

Fisher BioReagents™ des des puretés pour chaque application 13

Agaroses pour l'électrophorèse d'ADN 14

Guide de sélection de l'agarose 14

Tampons pour les applications d'électrophorèse d'ADN 14

TAE: Exempt de DNase, RNase et protéase 14

TBE : Exempt d'ADNase et d'ARNase 14

Tampons pour l'électrophorèse d'ADN 15

Tampons l'électrophorèse d'ARN 15

MOPS : Exempt d'ADNase, d'ARNase et de protéase 15

Agents de charge du gel 16

Visualisation d'ADN 16

Bioréactifs génériques 16

Marqueurs de taille d'ADN exaACTGene® et de routine 17

Solutions mères 18

TAE 50X 18

TAE 1X 18

TBE 10X 18

TBE 1X 18

Tampon de charge d'ADN 6X 18

Solution de bromure d'éthidium 18

Guide de résolution des problèmes 19

Références 20

Garantie 21

NOTES 22

Instructions de sécurité

- Lorsque ces unités sont utilisées correctement, elles ne présentent aucun risque pour la santé.
- Toutefois, ces unités sont susceptibles de délivrer des niveaux dangereux d'électricité et doivent être utilisées uniquement par du personnel qualifié en suivant les recommandations de ce manuel.
- Toute personne ayant l'intention d'utiliser cet équipement doit lire la totalité du manuel.
- L'unité ne doit jamais être utilisée sans que le couvercle de sécurité ne soit en position correcte.
- L'unité ne doit pas être utilisée si des traces de dommage sont présentes sur la cuve extérieure ou sur le couvercle.
- Ces unités sont conformes aux directives statutaires CE relatives à la sécurité :
    - 73/23/CEE : Directive Basse tension : CEI 1010-1:1990 plus Amendement 1:1992
    - EN 61010-1:1993/BS EN 61010-1:1993

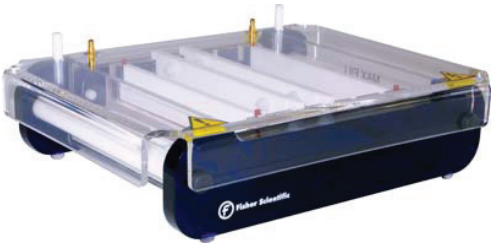
Contenu de l'emballage

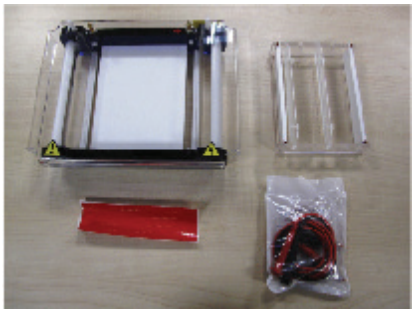
N° de cat.	Obturateurs de moulage du gel en plastique	Peigne : épaisseur, nombre de dents et quantité	Ports de recirculation du tampon	Plateau de moulage du gel
11553352 (FHU10WMK2)	**11573352** (FHU10W2CG)	**11573362** (FHU10W2C120) x 2 1 mm, 20 échantillons	**NON**	**11563352** (FHU10W2UT)
11563382 (FHU13WMK2)	**11503392** (FHU13W2CG)	**11553392** (FHU13W2C125MC) x 2 1 mm, 25 échantillons	**11593382** (FHUBRP)	**11583382** (FHU13W2UT14)

Les listes de contenu de l'emballage doivent être consultées dès la réception des unités afin de s'assurer que tous les composants ont été livrés. L'absence de dommages sur l'unité doit être vérifiée à la réception.

En cas de problème ou si un élément est manquant, veuillez contacter Fisher Scientific.

Unité à gel horizontal, format large, Mini-Plus (11553352)





Unité à gel horizontal, format large, Midi-Plus (11563382)

Caractéristiques du système

Structure

- Structure solide en acrylique
- Tous les raccords en acrylique sont liés chimiquement
- Câbles à double isolation avec une tension maximale nominale de 1 000 V
- Connecteurs électriques plaqués or, anti-corrosion et avec une tension maximale nominale de 1 000 V
- Connecteurs d'alimentation en retrait intégrés au couvercle de sécurité
- Électrodes de platine de 0,2 mm de diamètre, d'une pureté de 99,99 %
- Plateaux de moulage de gel amovibles, transparents aux UV
- Unité Midi-Plus format large fournie avec un plateau de moulage, des obturateurs de moulage et des joints intégraux en silicone
- Peignes avec un code de couleurs indiquant l'épaisseur :
    - 1,0 mm - blanc
    - 1,5 mm - rouge
    - 2,0 mm - bleu
- Peignes à hauteur réglable

Consignes et limites d'utilisation

- Altitude maximale 2 000 m
- Plage de température entre 4 °C et 65 °C
- Humidité relative maximale de 80 % pour des températures allant jusqu'à 31 °C et décroissant linéairement jusqu'à 50 % d'humidité relative à 40 °C
- Ne convient pas à l'utilisation en extérieur

Cet appareil est classé DEGRÉ DE POLLUTION 2 en conformité avec la norme CEI 664.

Le DEGRÉ DE POLLUTION 2 indique que « seule une pollution non conductrice est occasionnellement produite, cependant une conductivité temporaire causée par la condensation doit être attendue ».

Entretien et maintenance

Nettoyage des unités horizontales

Les unités doivent être nettoyées avec de l'eau chaude et un détergent doux. **L'eau à une température supérieure à 60 °C est susceptible d'endommager l'unité et les composants.**

La cuve doit être rincée abondamment avec de l'eau chaude ou de l'eau distillée pour empêcher l'accumulation de sels, mais il est nécessaire de veiller à ne pas endommager l'électrode intégrée. Un nettoyage vigoureux n'est ni nécessaire, ni recommandé.

Il est préférable d'effectuer un séchage à l'air avant l'utilisation.

Les unités doivent uniquement être nettoyées de la manière indiquée ci-dessous :

- Eau chaude avec une faible concentration de savon ou autre détergent doux. Les unités ne doivent pas être laissées plongées dans du détergent pendant plus de 30 minutes.
- Elles doivent ensuite être rincées immédiatement avec de l'eau distillée.
- Exemples de détergents compatibles : liquide vaisselle, hexane et hydrocarbures aliphatiques.

Les unités ne doivent jamais entrer en contact avec les agents de nettoyage suivants sous peine de causer des dommages irréversibles et cumulés :

- L'acétone, le phénol, le chloroforme, le tétrachlorure de carbone, le méthanol, l'éthanol, l'alcool isopropylique et les alcalins

Décontamination de l'RNase

Cette opération peut être effectuée avec le protocole suivant :

- Nettoyer les unités avec un détergent doux comme indiqué ci-dessus.
- Laver avec du peroxyde d'hydrogène à 3 % (H_2O_2) pendant 10 minutes.
- Rincer avec de l'eau distillée traitée au DEPC (diéthyl pyrocarbonate) à 0,1 % (n° de cat. 10245203, voir page 15).

Les risques

Le DEPC est un cancérogène présumé. Toujours prendre les précautions nécessaires pendant l'utilisation.

Utilisation des unités d'électrophorèse horizontale

Installation des cuves pour gels horizontaux

Instructions pour l'installation des câbles d'électrode

- Noter la position du couvercle sur l'unité. Ceci indique la polarité et l'orientation correctes des câbles, le noir correspondant au négatif et le rouge au positif.
- Retirer le couvercle de l'unité. Notez que si le couvercle n'est pas retiré, l'installation des câbles est susceptible de desserrer le connecteur doré et d'endommager l'électrode.
- Visser les câbles dans les trous taraudés aussi loin que possible afin de ne pas laisser d'interstice entre le couvercle et l'extrémité de la garniture de câble.
- Remettre le couvercle en place.

Instructions pour l'installation des guides de chargement (facultatif)

Ces éléments peuvent être installés pour améliorer la visibilité des puits si nécessaire. Ils peuvent être installés sur la plate-forme blanche en vinyle ou sur l'unité elle-même.

- Mettre le plateau en place dans l'unité et noter la position des rainures des peignes. Les échantillons migrent du noir vers le rouge mais les plateaux peuvent être utilisés dans les deux sens, donc il est nécessaire de s'assurer que les rainures de peigne les plus proches de l'électrode noire sont marquées.
- Retirer le plateau.
- Enlever l'arrière du guide de chargement et appliquer avec précaution le guide de chargement à la plate-forme à gel.

L'unité est désormais prête à être utilisée.

Coulage du gel

- S'assurer que le joint en caoutchouc de silicone est en position, c'est-à-dire enfoncé de façon égale dans la rainure le long des bords des obturateurs de moulage du gel.
- Placer les obturateurs de moulage dans les fentes du plateau de moulage du gel, les faces avec les joints en caoutchouc de silicone étant tournées vers l'extérieur (Fig. 1).
- Placer l'unité à gel sur une surface horizontale ou sur une table de mise à niveau du gel.
- Positionner les peignes choisis dans les fentes du plateau de moulage du gel (Fig. 2).
- Préparer 75 ou 160 mL de l'agarose de % souhaité pour les unités 11553352 ou 11563382, respectivement. Ceci permet d'obtenir une profondeur de gel de 5 mm. Pour obtenir une profondeur de gel de 10 mm, préparer le double de ce volume (voir le Guide de sélection de l'agarose à la page 14).
- Verser doucement l'agarose pour éviter la formation de bulles. Si des bulles se forment tout de même, elles peuvent être amenées vers le bord du gel et dispersées à la main avec un gant propre.
  (IMPORTANT : s'assurer que l'agarose a refroidi jusqu'à une température comprise entre 50 et 60 °C avant de le verser, afin d'éviter de causer une déformation de l'appareil).
- Laisser l'agarose durcir en s'assurant de ne pas perturber le gel (Fig. 3).
- Retirer doucement les obturateurs de moulage du gel et le(s) peigne(s).
- Placer le plateau de moulage du gel en position de fonctionnement de manière à ce que les puits soient plus proches de l'électrode noire (cathode).
- Remplir la cuve avec le tampon de migration de façon à ce que la solution tampon submerge légèrement le gel
  (voir page 14 pour plus d'informations sur l'emploi de solutions tampons dans les applications d'électrophorèse).

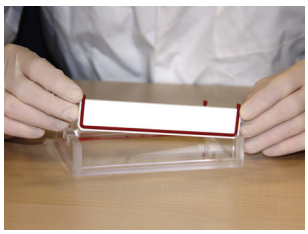


Fig. 1

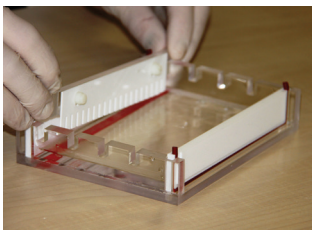


Fig. 2

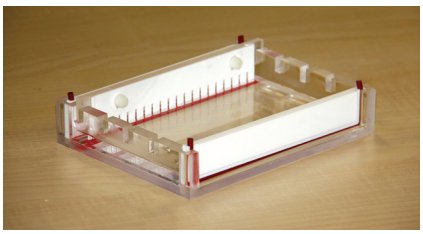


Fig. 3

Migration du gel

- Les échantillons doivent être mélangés avec un colorant-marqueur ou un tampon de charge adéquat avant d'effectuer le chargement, afin de permettre à l'échantillon de couler dans le puits et de faciliter la visualisation de la distance de migration des échantillons pendant l'électrophorèse. Consultez votre manuel de laboratoire pour plus d'informations sur les tampons de charge, ainsi que la page 16 pour une liste des agents de charge du gel.
- Charger les échantillons dans les puits en prenant soin de ne pas endommager les bords ni le fond des puits. Remettre le couvercle en place correctement AVANT de raccorder les câbles à l'alimentation. Les alimentations de n° de cat. 12643546 (double sortie) et 12613546 (quadruple sortie) sont deux modèles recommandés.

N° de cat. 12643546

N° de cat. 12613546

- Régler la tension et l'intensité qui conviennent à l'application d'électrophorèse. À titre indicatif, pour obtenir la résolution optimale sur les fragments d'ADN, les gels d'agarose ne doivent pas être soumis à des champs supérieurs à 5 V/cm. Voir le tableau « Conditions de fonctionnement » ci-dessous pour les réglages de tension et d'intensité recommandés. IMPORTANT : La tension et l'intensité recommandées ne doivent pas être dépassées sous peine de dégrader la résolution de bande et d'endommager l'unité.
- Pour les migrations de longue durée, il peut être nécessaire d'effectuer une recirculation du tampon afin d'éviter les surchauffes ou l'épuisement du tampon. Des ports de recirculation sont présents sur l'unité 11563382. IMPORTANT : Lorsque la recirculation du tampon est utilisée, ne pas oublier que la solution tampon qui circule dans les tuyaux est sous tension. Prendre toutes les précautions nécessaires. Les autres personnes travaillant à proximité doivent être averties du danger potentiel. Solliciter les conseils du responsable de la sécurité.

Conditions de fonctionnement

N° de cat.	Tension de fonctionnement normale (V)	Intensité de fonctionnement normale (mA)	Volume de gel pour un gel de 5 mm (mL)	Volume de tampon approximatif (mL)	Distance de séparation des électrodes (mm)
11553352	150	100	75	400	160
11563382	150	100	160	1 000	200

En fin de la migration

- Mettre à zéro les consignes de l'alimentation, mettre l'alimentation secteur hors tension et déconnecter les fils d'alimentation.
- Visualiser la progression de la migration ou la séparation finale sur un transilluminateur à UV.
- À la fin de la migration, rincer l'appareil avec de l'EAU DISTILLÉE UNIQUEMENT.
- IMPORTANT : Le plastique acrylique n'est PAS résistant aux hydrocarbures aromatiques ou halogénés, aux cétones, aux esters, aux alcools (à plus de 25 %) et aux acides (à plus de 25 %). Ces produits causent une fissuration, en particulier du plastique transparent aux UV, et ils ne doivent donc PAS être utilisés pour le nettoyage. NE PAS utiliser de crèmes abrasives ou de tampons à récurer. Sécher les composants avec des tissus propres avant l'utilisation.
- S'assurer que les connecteurs sont propres et secs avant l'utilisation ou le stockage.

Préparation de gels d'agarose

La quantité d'agarose nécessaire pour un gel avec un pourcentage donné doit être calculée. Par exemple, un gel à 0,8 % est obtenu en dissolvant 0,8 g de poudre d'agarose dans 100 mL de tampon de migration. La composition du tampon de migration du gel doit être identique à celle utilisée dans la cuve de tampon. L'agarose doit être entièrement dissoute avant que le gel puisse se former correctement. Ceci peut être réalisé par chauffage dans un bain d'eau tourbillonnant ou un incubateur réglé sur 70 °C, ou sur un bloc de chauffage magnétique contenant un agitateur magnétique. Le flacon doit toujours être couvert pour éviter l'évaporation du tampon, ce qui produirait un gel de concentration supérieure. La dissolution de l'agarose peut prendre plus d'une heure avec ces méthodes. L'agarose peut aussi être dissoute en cinq à dix minutes au four à micro-ondes. La solution d'agarose doit être couverte et le four à micro-ondes réglé sur une puissance faible. L'agarose se dissout mieux si le four est périodiquement arrêté pour agiter la solution. Avant de verser, il convient de vérifier dans la solution d'agarose l'absence de cristaux d'agarose non dissous qui sont susceptibles de modifier les caractéristiques de mobilité des gels. Si de tels cristaux sont présents, la dissolution de l'agarose doit être poursuivie. La solution d'agarose doit être refroidie jusqu'à une température comprise entre 50 et 60 °C avant de verser. Si le gel est versé à une température trop élevée, il sera davantage susceptible de fuir et le peigne pourrait se déformer.

Électrophorèse en gel d'agarose

Mobilité de l'ADN : Des fragments d'ADN d'une taille de 1 kb ou inférieure peuvent être séparés par électrophorèse en gel d'agarose. Pour des fragments d'une taille inférieure à 0,1 kb, les gels de polyacrylamide sont mieux adaptés.

Mobilité de l'ARN : L'ARN doit être dénaturé avant ou pendant l'électrophorèse. Par exemple :

- Des fragments d'ARN qui ont été dénaturés par du glyoxal et du diméthylsulfoxyde peuvent être séparés sur des gels d'agarose neutres.
- Autrement, l'ARN peut être fractionné sur des gels d'agarose contenant de l'hydroxyde de méthylmercure ou du formaldéhyde.

Les échantillons d'ARN exigent généralement des migrations plus longues ou des tampons qui s'épuisent rapidement, ce qui rend nécessaire de faire circuler le tampon. Les analyses de transfert d'ARN (northern blot) ne doivent normalement pas être effectuées sur une cuve de gel de type mini.

Performance de séparation

La concentration du gel, le tampon de migration, la tension, la température, la conformation et la présence de bromure d'éthidium peuvent tous avoir une incidence sur les résultats de la séparation.

Sélection de la concentration du gel

La distribution des tailles des fragments à séparer détermine le choix de la concentration en agarose pour un gel. La concentration typique en agarose est de 0,5 % à 3,0 %. Pour de gros fragments d'ADN, des gels avec un pourcentage faible sont nécessaires, tandis qu'un pourcentage élevé est recommandé pour de petits fragments d'ADN. Les gels faibles (< 0,5 % d'agarose) doivent subir une électrophorèse à basse température (par exemple ~4 °C). Avec les électrophorèses de routine, des gels d'agarose de 0,75 % à 1,0 % sont recommandés pour séparer des molécules de tailles très variées (entre 0,15 et 15 kb). Les gels d'agarose entre 2 et 4 % sont généralement sélectionnés pour la résolution de fragments de PCR.

Si le gel doit être photographié, des gels fins (2 mm à 3 mm) avec un faible pourcentage d'agarose conviennent mieux que des gels épais ou avec un pourcentage élevé. Ces derniers sont susceptibles de présenter une opacité plus élevée et davantage d'auto-fluorescence.

Le tableau ci-dessous suggère des concentrations d'agarose pour séparer diverses tailles de fragments. D'autre part, les plages de résolution peuvent être étendues en utilisant des agaroses spéciaux.

Agarose (%)	Résolution effective des fragments d'ADN linéaires (kb)	
0,5	30 →	1,0
0,7	12 →	0,8
1,0	10 →	0,5
1,2	7 →	0,4
1,5	3 →	0,3
2,0	3 →	0,2
3,0	3 →	0,1

Sélection du tampon d'électrophorèse

Le tampon TAE offre une résolution optimale des fragments de plus de 4 kb de longueur, tandis que le tampon TBE doit être sélectionné pour les fragments de 0,1 à 3 kb. Le TBE a une plus grande capacité tampon et une conductivité plus faible que le TAE et doit donc être utilisé pour l'électrophorèse à haute tension. D'autre part, le tampon TBE produit moins de chaleur que le TAE à une tension équivalente et empêche les dérives importantes de pH. Voir la page 14 pour consulter la liste des tampons pour les applications d'électrophorèse d'ADN.

Remarque : En raison de sa capacité tampon inférieure, le TAE peut nécessiter une circulation ou un mélange de temps à autre pour réaliser des électrophorèses sur toute la longueur, en particulier à des tensions élevées.

Température

L'électrophorèse à haute tension produit de la chaleur. D'autre part, les tampons à haute conductivité tels que le TAE produisent davantage de chaleur que les tampons à faible conductivité. Pour les électrophorèses en gel d'agarose avec des tensions supérieures à 175 V, des précautions doivent être prises car l'accumulation de chaleur est susceptible de produire des artefacts dans le gel (notamment des fronts de migration en S) et les électrophorèses longues peuvent même faire fondre le gel d'agarose. Les gels d'agarose avec un point de fusion faible ne doivent pas être utilisés pour les migrations à haute tension.

Visualisation d'ADN

Pour établir la progression d'ADN double brin, du bromure d'éthidium (0,5 µg/mL) est souvent ajouté au tampon de migration (voir la page 18 pour une liste des produits de bromure d'éthidium). Les propriétés de fluorescence du colorant permettent de visualiser la bande sous une lampe UV. Cependant, le bromure d'éthidium peut réduire la vitesse de migration de l'ADN d'environ 15 %. Autrement, après l'électrophorèse, le gel peut être marqué dans une solution de bromure d'éthidium (H_2O à 0,5 µg/mL) pendant 15 à 60 minutes, puis visualisé ou photographié avec un transilluminateur à UV. Remarque : La durée de marquage doit être minimisée pour éviter que de petits fragments d'acide nucléique ne diffusent hors du gel.

La fluorescence de fond du bromure d'éthidium non lié peut être minimisée en éliminant le marquage par un trempage du gel pendant 5 minutes dans du $MgCl_2$ à 0,01 M, ou pendant 30 minutes dans de l'eau déionisée.

ATTENTION !

Le bromure d'éthidium est un mutagène avéré. Des gants doivent toujours être portés pour le manipuler. Porter des lunettes de sécurité UV et protéger la peau avant d'utiliser toute source de lumière UV.

ANNEXE

Spécifications des peignes

Les tableaux suivants indiquent la gamme complète des peignes disponibles à utiliser avec les unités 11553352 et 11563382.

Utilisation de plusieurs peignes

Tous les systèmes Fisher Scientific permettent d'utiliser plusieurs peignes. Cette fonctionnalité augmente considérablement le nombre d'échantillons d'ADN plasmidiques « mini-prep » qui peuvent être criblés. En utilisant la rangée de puits inférieure sur le gel, des fragments de référence peuvent être ajoutés pour l'hybridation par transfert d'ADN (southern blot).

Remarque : les fragments de référence doivent être ajoutés à la rangée inférieure et laissés à migrer dans le gel pendant quelques minutes avant la fin de l'électrophorèse.

11553352 - Unité à gel horizontale, format large, Mini-Plus

N° de cat.	Épaisseur (mm)	Nombre d'échantillons	Largeur de l'outil (mm)	Espacement des dents (mm)	Volume d'échantillon max. par puits pour un gel de 5 mm de profondeur, µL
11523362	1	4	33	2	41,9
11533362*	1	8	15,5	2	66,65
11543362	1	10	12	2	51,6
11553362	1	12	9,4	2,3	40,42
11563362*	1	16	6,8	2	29,24
11573362	1	20	5	2	21,5
11503372	1,5	4	33	2	212,85
11513372*	1,5	8	15,5	2	99,975
11523372	1,5	10	12	2	77,4
11533372	1,5	12	9,4	2,3	60,63
11543372*	1,5	16	6,8	2	43,86
11553372	1,5	20	5	2	32,25
11583372	2	4	33	2	283,8
11593372*	2	8	15,5	2	133,3
11503382	2	10	12	2	103,2
11513382	2	12	9,4	2,3	80,84
11523382*	2	16	6,8	2	58,48
11533382	2	20	5	2	43

* indique que ces peignes sont compatibles avec des pipettes multicanaux

11563382 - Unité à gel horizontale, format large, Midi-Plus

N° de cat.	Épaisseur (mm)	Nombre d'échantillons	Largeur de l'outil (mm)	Espacement des dents (mm)	Volume d'échantillon max. par puits pour un gel de 5 mm de profondeur, µL
11523392*	1	12	16,7	2,2	71,81
11533392	1	16	12,1	2,0	52,03
11543392	1	20	9,3	2,0	39,99
11553392*	1	25	7,0	2,0	30,1
11563392	1	28	6,0	2,1	25,8
11573392	1	40	3,9	1,8	16,77
11583392*	1	50	3,5	1,0	15,05
11593392*	1,5	12	16,7	2,2	107,715
11503402	1,5	16	12,1	2,0	78,045
11513402	1,5	20	9,3	2,0	59,985
11523402*	1,5	25	7,0	2,0	45,15
11533402	1,5	28	6,0	2,1	38,7
11543402	1,5	40	3,9	1,8	25,155
11553402	1,5	50	3,5	1,0	22,575
11563402*	2	12	16,7	2,2	143,62
11573402	2	16	12,1	2,0	104,06
11583402	2	20	9,3	2,0	79,98
11593402	2	25	7,0	2,0	60,2
11503412	2	28	6,0	2,1	51,6
11513412	2	40	3,9	1,8	33,54
11523412*	2	50	3,5	1,0	30,1

* indique que ces peignes sont compatibles avec des pipettes multicanaux

Fisher BioReagents™

Votre fournisseur de produits de haute pureté pour l'électrophorèse d'acides nucléiques

Emballages conçus pour la sécurité, le confort et la qualité des produits

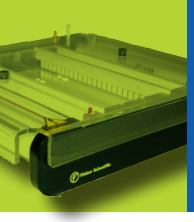
Les bioréactifs Fisher sont livrés dans un vaste éventail d'emballages innovants conçus pour la sécurité, la protection de l'environnement, le confort de manipulation et de stockage, et la conservation de l'intégrité des produits. Le récipient primaire est indiqué dans la description du produit pour la plupart des espèces chimiques de ce catalogue.

Liste non exhaustive de récipients primaires :

- Bouteilles et flacons en plastique et en verre
- Récipients à acide spéciaux
- Bouteilles carrées en polymère
- Sachets garantissant la stérilité
- Seaux en polymère
- Récipients en Polypac™
- Boîtes laminées compactes

Fisher BioReagents™ des des puretés pour chaque application

Grade du matériau	Définition
Certifié	Réactifs chimiques dont la norme de pureté est établie par Fisher Chemical. Le respect des limites maximales de concentration d'impuretés est garanti.
Grade ADN	Désigne les réactifs convenant à l'utilisation dans les applications de biologie moléculaire impliquant la manipulation d'ADN. Testé pour des contaminants spécifiques tels que l'ADNase et la protéase.
Synthèse d'ADN	Désigne des réactifs convenant à l'utilisation avec de l'instrumentation automatisée de synthèse d'ADN.
Électrophorèse	Matériau utilisé spécifiquement pour les applications d'électrophorèse.
Grade Analyse génétique	Matériau spécifiquement préparé pour diverses applications de clonage moléculaire. Testé pour des contaminants spécifiques tels que l'ADNase et l'ARNase.
Grade IEF	Matériau convenant à l'utilisation avec la focalisation isoélectrique de protéines.
Grade Isolement d'îlots	Matériau convenant à l'isolement d'îlots pancréatiques.
Grade Biologie moléculaire	Désigne les réactifs convenant à l'utilisation dans les applications de biologie moléculaire. Testé pour des contaminants spécifiques tels que les nucléases et les bactéries, selon les besoins.
Génétique moléculaire	Molécules réactives spécifiquement purifiées et testées pour des applications de génétique moléculaire.
Grade PCR	Matériau convenant à l'utilisation avec la réaction en chaîne par polymérase (PCR).
Synthèse de peptides	Désigne des réactifs convenant à l'utilisation avec de l'instrumentation de synthèse de protéines.
Grade Électrophorèse de protéines	Matériau utilisé spécifiquement pour les applications d'électrophorèse de protéines.
Séquençage	Matériau conçu pour l'utilisation avec de l'équipement automatisé de séquençage d'ADN ou de protéines.
Super pur	Matériau avec un niveau de pureté dépassant les différents grades des monographies.
Grade Culture de tissus	Matériaux de qualité supérieure pour lesquels il n'existe pas de normes publiées et qui conviennent à l'utilisation dans les applications de culture de tissus.



Agaroses pour l'électrophorèse d'ADN

Fisher BioReagents®

Tous les agaroses Fisher BioReagents sont exempts d'ADNase et d'ARNase afin de garantir des résultats optimaux à vos applications d'acides nucléiques.
Les trois grades d'agarose disponibles ont été fonctionnellement testés et pré-qualifiés pour les applications spécifiques suivantes :

- **Grade Analyse génétique** : Agarose qui produit de l'ADN ou de l'ARN biologiquement actif. Les tests incluent des mesures de performance enzymatique.
- **Grade de biologie moléculaire** : Agarose qui convient à la séparation analytique de l'ADN ou de l'ARN.
- **Grade PCR** : Agarose qui convient à la séparation analytique d'amplicons de PCR (< 1 kb)

Guide de sélection de l'agarose

Type d'agarose	EEO faible	Point de fusion élevé (>200 bp)	Point de fusion faible (<1 kb)	Large intervalle de séparation	Grade PCR
N° de cat.	**10766834** (100 g) **10366603** (500g)	**10377033** (25 g)	**10583355** (100 g)	**10688973** (100 g) **10776644** (500 g)	**10522775** (100 g)
Récupération d'ADN ou d'ARN	•	•	•	•	•
Transfert d'ADN (southern blot) et d'ARN (northern blot)	•				
Séparation d'ADN/ARN de 50 bp à 1 kb			•		•
Séparation d'ADN/ARN > 1 kb	•	•		•	
Analyse de fragments de PCR	•	•	•	•	•
Réactions de ligature intra-gel, transformations, PCR)			•		
Prélèvements de colonies	•				
Grade Agarose	Biologie moléculaire	Biologie moléculaire	Analyse génétique	Analyse génétique	Grade PCR

Tampons pour les applications d'électrophorèse d'ADN

Le tris-acétate avec EDTA et le tris-borate avec EDTA sont deux tampons couramment utilisés pour l'électrophorèse d'ADN. Le pH de ces tampons étant neutre, le squelette phosphate de l'ADN a une charge nette négative et migre vers l'anode. Le TAE et le TBE ont des propriétés différentes qui les rendent plus adaptés à des finalités spécifiques.

TAE: Exempt de DNase, RNase et protéase

N° de cat.	Concentration	Quantité
10542785	1X	4 L
10123293	1X	20 L
10628403	10X	500 mL
10041223	10X	1 L
10775494	10X	4 L
10775494	10X	20 L
10490074	25X	1 L
10457583	50X	500 mL
10490264	50X	1 L
10542985	50X	4 L
10326463	50X	20 L
10255303	20 L	1 L**

TBE : Exempt d'ADNase et d'ARNase

N° de cat.	Concentration	Quantité
10754914	1X	1 L
10715684	1X	4 L
10755104	1X	20 L
11898562	5X	1 L*
10727224	10X	1 L
10031223	10X	4 L
10563155	10X	20 L
10448543	10X	1 L**

*Poudre pré-pesée dans une bouteille en polymère. Dissoudre dans de l'eau.
**Poudre pré-pesée dans un emballage en feuille d'aluminium. Dissoudre dans de l'eau.

Tampons pour l'électrophorèse d'ADN

Fisher BioReagents®

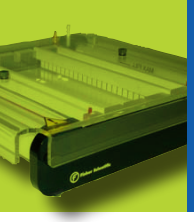
Article	N° de cat.	Quantité
Base Tris	**10103203**	500 g
	10376743	1 kg
	10724344	5 kg
	10667243	10 kg
	10336793	25 kg
Acide acétique glacial	**10021123**	500 mL
Acide borique	**10522595**	500 g
	10011083	1 kg
Sel disodique d'EDTA	**10618973**	500 g
	10522965	1 kg

Tampons l'électrophorèse d'ARN

Le MOPS est un système tampon couramment utilisé pour l'électrophorèse d'ARN avec de l'ARN dénaturé au formaldéhyde ou au formamide. Il est important d'utiliser des produits chimiques, de l'eau et des récipients exempts d'ARNase pendant la préparation de la solution tampon. La formulation typique d'un tampon de migration MOPS 10X est du MOPS à 0,4 M (pH 7,0), de l'acétate de sodium à 0,1 M et de l'EDTA à 0,01 M.

MOPS : Exempt d'ADNase, d'ARNase et de protéase

N° de cat.	Description	Quantité
10234673	Poudre	100 g
10234723	Poudre	500 g
10655025	Solution tampon 10X	500 mL
11889191	Solution tampon 10X	1 L
	Eau	
10295243	Exempt de nucléase	50 mL
10336503	Exempt de nucléase	100 mL
11448023	Grade ADN	1 L
10245203	Grade ARN	1 L



Fisher BioReagents®

Agents de charge du gel

N° de cat.	Description	Quantité
10205023	Colorant de charge de gel d'agarose 6X	6 mL
10205263	Colorant de charge de gel au glycérol 5X, exempt d'ADNase et d'ARNase	1 mL
10400084	Colorant de charge de gel au glycérol 5X, exempt d'ADNase et d'ARNase	5 mL
10679733	Bleu de bromophénol	25 g
10532965	Xylène cyanol FF	10 g

Visualisation d'ADN

N° de cat.	Description	Quantité
10132863	Solution de bromure d'éthidium 1 %	10 mL
10726074	Bromure d'éthidium	1 g
10678973	Bromure d'éthidium	5 g

Bioréactifs génériques

N° de cat.	Description	Quantité
10021123	Eau, grade ARN, stérile, exempt d'ADNase, d'ARNase et de protéase, traité aux DEPC, pour travailler avec de l'ARN	1 L
10021123	Acide acétique glacial	500 mL
10011083	Acide borique testé pour l'électrophorèse, exempt d'ADNase	1 kg
10021083	Glycérol, exempt d'ADNase, d'ARNase et de protéase	1 L
10468343	Ficoll 400, m.m. 400 000, exempt d'ADNase, d'ARNase et de protéase, grade Biologie moléculaire	100g

N° de cat.	10657633
bp	ng/10 µL
1000	90
900	66
800	58
700	48
600	41
500	69
400	28
300	21
200	28
100	20
50	14
25	15

N° de cat.	10489883
bp	ng/10 µL
10000	58
8000	53
6000	46
5000	67
4000	56
3000	47
2500	41
2000	34
1500	29
1000	18
700	13
500	23
300	14

Fisher BioReagents®

Marqueurs de taille d'ADN exaACTGene® et de routine

Des échelles d'ADN prêtes à l'emploi (pré-mélangées avec le colorant de charge) et stables à température ambiante sont disponibles pour toutes les applications d'électrophorèse.

exACTGene™ DNA ladders are ideal for qualitative analysis, quantitative estimation and size assessment

N° de cat.	Description	Size Range	Number of Bands	Number of Loadings
10214973	PCR fragment analysis	25 to 650bp	14	100/10µL
10657633	PCR fragment analysis, small DNA digests	25 to 1,000bp	12	100/10µL
10224973	Quick check of PCR or enzyme digestion results	50 to 2,000bp	8	100/10µL
10061413	General purpose, small DNA fragments	100 to 1,000bp	10	100/10µL
10021463	Fast run times, small DNA fragments	100 to 2,000bp	11	100/10µL
10306943	Clone identification	100 to 2,686bp	14	100/10µL
10031463	Large size PCR or cloning	300 to 5,000bp	10	100/10µL
10122823	Small and large cloning application	100 to 5,000bp	16	100/10µL
10489883	General purpose, large digested DNA	300 to 10,000bp	13	100/10µL
10499883	General purpose, wide separation range	100 to 10,000bp	19	100/10µL

Routine DNA ladders are designed for qualitative analysis and size assessment

Kat. Nr.	Anwendung	Size Range	Number of Bands	Number of Loadings
10284633	Small fragments, quick size assessment	50-2000bp	11	200/5uL
10450464	Quick size assessment of broad size range	50-10,000bp	16	200/5uL
10699163	General purpose, extra large DNA fragments	300 to 24,000bp	15	100/10µL

Solutions mères

TAE 50X

Fisher BioReagents®

Pour préparer 1 L :

- Peser 242 g de base tris (Mr = 121) et dissoudre dans 750 mL d'eau distillée. (n° de cat. 10376743*)
- Ajouter 57,1 mL d'acide acétique glacial et 100 mL d'EDTA 0,5 M (pH 8,0) (n° de cat. 10021123*) (n° de cat. 10618973*)
- Compléter jusqu'à un litre avec de l'eau distillée

La solution mère peut être stockée à température ambiante.
Le pH du tampon n'est pas ajusté et doit être d'environ 8,5.

TAE 1X

Fisher BioReagents®

Diluer 50X la solution mère dans de l'eau distillée. Les concentrations finales sont :

- tris 40 mM (pH 7,6) (n° de cat. 10376743*)
- Acide acétique glacial 20 mM (n° de cat. 10021123*)
- EDTA 1mM (n° de cat. 10618973*)

TBE 10X

Fisher BioReagents®

Pour préparer 1 L :

- Peser 108 g de base tris (Mr = 121) et dissoudre dans 750 mL d'eau distillée. (n° de cat. 10376743*)
- Ajouter 55 g d'acide borique (FW = 61,8) et 40 mL d'EDTA 0,5 M (pH 8,0) (n° de cat. 10011083*) (n° de cat. 10618973*)
- Compléter jusqu'à un litre avec de l'eau distillée

La solution mère peut être stockée à température ambiante.

TBE 1X

Fisher BioReagents®

Diluer 10X la solution mère dans de l'eau distillée. Les concentrations finales sont :

- Tris 89 mM (pH 7,6) (n° de cat. 10376743*)
- Acide borique 89 mM (n° de cat. 10011083*)
- EDTA 2 mM (n° de cat. 10618973*)

Tampon de charge d'ADN 6X

Fisher BioReagents®

Pour préparer 100 mL :

- 60 mL de glycérol
- 6 mL de Tris-HCl 1 M pH 8,0 (n° de cat. 10376743)
- 1,2 mL d'EDTA 0,5 M, pH 8,0 (n° de cat. 10618973)
- 32,8 mL d'eau distillée
- To the solution, add either 60mg of Bromophenol Blue (Cat. No 10679733*) or 60mg xylene cyanole FF (Cat. No 10532965*)

In a 1% agarose gel the tracking dyes are expected to run at approximately 300bp for bromophenol blue and 40,000bp for xylene cyanole.

Solution de bromure d'éthidium

Fisher BioReagents®

- Ajouter 10 mg de bromure d'éthydium (n° de cat. 10678973*) à 1 mL d'eau distillée.

CAUTION!

Le bromure d'éthidium est un mutagène avéré. Des gants doivent toujours être portés pour le manipuler.

Porter des lunettes de sécurité UV et protéger la peau avant d'utiliser toute source de lumière UV.

*voir les pages 13 à 17 pour plus d'informations sur ces bioréactifs Fisher

Guide de résolution des problèmes

La plupart des problèmes peuvent être évités en lisant et en suivant les instructions figurant dans ce manuel d'utilisation. Nous indiquons ci-dessous la liste des problèmes les plus couramment rencontrés avec des suggestions pour les résoudre. Toutefois, si le problème persiste ou si vous avez d'autres questions, veuillez contacter Fisher Scientific.

Problème	Suggestions
Aucune bulle n'apparaît sur les électrodes lorsque la tension de fonctionnement est appliquée	• S'assurer que l'alimentation C.C. est correctement raccordée.
L'agarose fondu fuit pendant le moulage	• Lorsque des obturateurs de moulage sont utilisés, faire en sorte que les surfaces assurant l'étanchéité du plateau de migration et des obturateurs de moulage du gel soient propres. • Vérifier que les extrémités du plateau de migration sont plates et exemptes de dommages superficiels.
Puits à échantillon déformé	• Laisser le gel durcir pendant au moins 30 minutes. • Laisser le peigne en place jusqu'à ce que le gel revienne à température ambiante, puis le retirer. • Le peigne doit être retiré lentement et avec un angle d'inclinaison faible afin d'éviter de casser le gel. • Prendre soin d'éviter d'endommager le puits avec la pipette. Viser le centre du puits tout en évitant d'endommager le fond du puits avec le bout de la pipette.
Les échantillons fuient sous le gel lors du chargement	• Les fonds des puits ont été déchirés lorsque le peigne a été retiré. Pour éviter ceci, secouer doucement le peigne pour dégager ses dents du gel.
Les échantillons ne migrent pas droit	• Le peigne est peut-être déformé et doit être remplacé. • Le plateau de migration est peut-être déformé et doit être remplacé. • Réduire la tension pour réduire l'accumulation de chaleur dans le gel. • Choisir un tampon avec une force ionique et une capacité tampon convenables.
Incurvation vers l'un des côtés du gel	• Le gel n'était pas à niveau pendant le moulage ou la migration. Utiliser une table de mise à niveau du gel pour mettre l'appareil à niveau avant le moulage du gel et l'électrophorèse.
Le colorant bleu de bromophénol devient jaune	• Vérifier le pH du tampon pendant l'électrophorèse (variation de pH). • S'assurer que qu'une base tris a été utilisée et non du tris-HCl. • Mélanger périodiquement le tampon pendant l'électrophorèse. • Raccorder une pompe pour faire circuler le tampon.

Problème	Suggestions
Motif à deux bandes	• S'assurer que le peigne est vertical pendant le moulage afin que les puits ne soient pas déformés. • Réduire le niveau du tampon à 1 mm au-dessus du gel. Ceci réduira le gradient de température dans le gel. • Augmenter la concentration de l'échantillon et utiliser un gel fin (2 mm à 3 mm) avec un peigne fin (1 mm).
Bandes à « queue » (fluorescence excessive apparaissant au-dessus de la bande)	• Réduire la quantité d'acides nucléiques dans l'échantillon
Mauvaise résolution de bande	• Ajouter du Ficoll (n° de cat. 10468343, voir page 16), du glycérol (n° de cat. 10021083, voir page 16) ou du sucrose au tampon de charge de l'échantillon pour s'assurer que l'échantillon forme une couche au fond du puits. S'assurer que l'échantillon est entièrement dissous. • Réduire la tension, la concentration de l'échantillon ou le volume de l'échantillon. • S'assurer qu'il y a au moins 1 mm de gel en dessous du peigne pour éviter que les échantillons ne fuient par le dessous du puits. • Réduire la concentration en sel de l'échantillon. Des concentrations en sel élevées sont susceptibles de produire des lignes « pincées », des lignes brouillées et des fronts de colorant incurvés, et de ralentir la migration. • Vérifier l'activité des enzymes : l'utilisation d'une durée de digestion plus longue ou d'un autre tampon de restriction pourrait être nécessaire. • Préparer un nouvel échantillon si une contamination de nucléase est soupçonnée. • Choisir un agarose avec une valeur d'endosmose faible.
Le gel fond ou se ramollit à proximité des puits à échantillons	• Causé par une combinaison de dérive de pH et de température élevée. Faire circuler ou mélanger le tampon périodiquement, ou réduire la tension.

Références

- Maniatis, T., Fritsch, E. F. and Sambrook, J. (1982) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York
- Rickwood, D. and Hames, B. D. (eds.) (1982) Gel Electrophoresis of Nucleic Acids: A Practical Approach, IRL Press, Oxford, England
- Longo, M. C. and Hartley, J. L. (1986) Focus 8:3, 3
- Ausubel, et al., (eds). (1993) Current Protocols in Molecular Biology. Greene Publishing and Wiley Interscience, New York

Garantie

- Les unités d'électrophorèse horizontale de Fisher Scientific sont garanties contre les défauts de fabrication et de matériel pendant douze mois à compter de la date de réception par le client.
- Si des défauts sont observés au cours de cette période de garantie, votre fournisseur effectuera une réparation ou un remplacement des pièces défectueuses à titre gratuit.
- Cette garantie ne couvre pas les défauts causés par les accidents et les utilisations incorrectes ou inadaptées.
- Les unités réparées ou modifiées par toute partie autre que votre fournisseur ou un distributeur ou représentant agréé cessent d'être sous garantie à compter de la date de modification de l'unité.
- Les unités utilisant des accessoires ou des pièces réparées ne provenant pas de votre fournisseur ou de ses distributeurs associés voient leur garantie annulée.
- Votre fournisseur ne peut réparer ou remplacer gratuitement des unités dans lesquelles des solutions ou produits chimiques incorrects ont été utilisés. Pour une liste des produits compatibles, voir la partie Entretien et maintenance.
- Si un problème se produit malgré tout, veuillez contacter Fisher Scientific.

Avertissement

NE PAS tenter de retirer le boîtier extérieur ou d'effectuer des réparations sur nos produits électriques en cas de défaillance d'une unité. Contacter immédiatement Fisher Scientific en cas de besoin de réparation ou de maintenance.

NOTES

Fisherbrand
QUALITY. RELIABILITY. VALUE.

Fisherbrand convient à toutes les applications

Nous vous aidons à obtenir les meilleurs résultats, chaque jour

© 2014 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.
Trademarks used are owned as indicated at www.fishersci.com/trademarks.

Austria: +43(0)800-20 88 40 **Belgium:** +32 (0)56 260 260 **Denmark:** +45 70 27 99 20
Germany: +49 2304 932-5 **Ireland:** +353 (0)1 885 5854 **Italy:** +39 02 950 59 478
Finland: +358 (0)9 8027 6280 **France:** +33 (0)3 88 67 14 14 **Netherlands:** +31 (0)20 487 70 00
Norway: +47 22 95 59 59 **Portugal:** +351 21 425 33 50 **Spain:** +34 902 239 303
Sweden: +41 31 352 32 00 **Switzerland:** +41 (0)56 618 41 11 **UK:** +44 (0)1509 555 500

SE_EN_ 2013_161_FB_favourites

Fisher Scientific
A Thermo Fisher Scientific Brand